

TRABAJO PRACTICO N°1

SISTEMA NERVIOSO

Coordinador: Dr. Marcelo Salierno

SIMULACION DE LA ACTIVIDAD BIOELECTRICA

INTRODUCCION

Propiedades de la membrana plasmática

La membrana celular, compuesta por lípidos y proteínas en un arreglo de mosaico fluido, delimita el espacio celular. Desde un punto de vista eléctrico ésta puede ser representada por un componente capacitivo (el aislamiento lipídico) y otro resistivo asociado con los canales iónicos que regulan el pasaje de iones específicos, confiriéndole una propiedad conductiva que puede variar en el tiempo. La asimetría en la distribución de cargas, la permeabilidad de membrana específica a distintos iones y el funcionamiento de la bomba Na^+/K^+ son los factores principales que proveen una diferencia de potencial medible entre el interior y el exterior de la célula (V_m). Esa diferencia es variable entre los distintos tipos celulares y en los tejidos excitables gira entorno a los -90mV . Estos tejidos tienen la capacidad de responder a un estímulo eléctrico con una despolarización transitoria de la membrana, lo que llamamos potencial de acción (PA). Este proceso fisiológico inicia diversos procesos tales como la transmisión nerviosa y la contracción muscular, entre otros.

OBJETIVO DEL TRABAJO PRACTICO

- Discutir los conceptos de voltaje, corriente y conductancia en relación a los cambios de permeabilidad (excitabilidad) de la membrana plasmática en neuronas, utilizando como modelo el planteado por A. Hodgkin y A. Huxley (1, 2).

PROCEDIMIENTO

- Para llevar a cabo el trabajo práctico utilizaremos un programa de simulación denominado AXOVACS (Axon Instrument Inc.). El programa está basado en el modelo de Hodgkin y Huxley, para la producción de potenciales de acción en los axones gigantes de calamar (no confundir con el calamar gigante).

El programa AXOVACS nos presenta una pantalla con 10 opciones:

(1) Channels

VOLTAGE CLAMP

- (2) Conductances
- (3) Currents
- (4) Advanced Version

CURRENT CLAMP

- (5) Action Potencial
- (6) Expanded Scales
- (7) Pharmacology
- (8) Ion Substitution
- (9) Advanced Version

OR: (0) Quit

1ª PARTE: Opción (5) Action potencial

La información contenida en la parte superior derecha representa los valores de potencial de membrana de los estímulos. Con el programa se pueden simular hasta 2 estímulos sucesivos.

Para visualizar un gráfico, presione la tecla "r". Para alterar los valores de una simulación, presione la tecla "e". Aparecerá una ventana donde se podrán modificar los valores de la simulación. Una vez introducidos los nuevos valores, basta con apretar nuevamente la tecla "r". Si quiere borrar lo que fue simulado anteriormente, presione la tecla "c". En algunos casos puede llegar a ser interesante superponer las diferentes simulaciones para poder comparar los cambios.

- a) Varíe el pulso del estímulo inicial externo (60, 70, 100 y 200 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$). Observe qué ocurre con la velocidad de despolarización, repolarización y el pico del potencial. La intensidad del estímulo modifica las conductancias de K^+ y de Na^+ ¿Por qué? ¿A qué se deben las diferencias observadas a distintos estímulos?
- b) Investigue la relación entre el PA y los cambios en las conductancias iónicas de los iones K^+ y Na^+ . Indique, con un gráfico del PA realizado a mano, dónde intervienen las corrientes de estos dos iones. Explique los cambios observados cuando el potencial de membrana (V_m) es: -30, -60 y -80. Finalmente, explique los cambios observados con un $V_m = -80$ si se aumenta la duración del estímulo al triple (0,3 ms).

Al finalizar el punto b), retorne al menú principal (presione <esc> e <y>), elija la opción 9 del menú principal (advanced version). Una vez dentro, presionando la tecla <e> se entra al menú de edición que tiene varias ventanas de opciones las cuales se suceden presionando <Av Pág>, <Re Pág>. En una de esas ventanas busque la opción "time scale" para ampliar la escala de tiempo a 25 ms (utilice las flechas).

- c) Investigue lo que ocurre entre 2 estímulos sucesivos. Estos deben tener 100 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ de amplitud y 0,1 milisegundos de duración. Varíe el intervalo entre los estímulos (20, 15, 10, 5 ms). Determine a qué se pueden deber las diferencias observadas a distintos tiempos, después del segundo estímulo. Vuelva a realizar este experimento pero primero varíe la amplitud del segundo estímulo a 600 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ (pruebe de nuevo 20, 15, 10 y 5 ms) ¿Encontró alguna diferencia? ¿Qué ocurre con las conductancias de los iones K^+ y Na^+ ?

Al finalizar con el punto c), retorne al menú principal (presione <esc> e <y>)

2ª PARTE: Opción (7) Pharmacology

Esta opción nos permite simular el bloqueo de canales de K^+ y de Na^+

- a) Observe el efecto sobre el PA al utilizar bloqueantes específicos de canales, Saxitoxina (STX) y Tetraetilamonio (TEA), a diferentes concentraciones. Indique que canales se bloquean y cuál es la concentración mínima necesaria para anular la influencia de ese canal en las condiciones iniciales del programa ¿Por qué se deben utilizar distintas concentraciones de cada fármaco para bloquear efectivamente las diferentes conductividades iónicas?
- b) Coloque los gráficos a una mayor escala presionando <e> y luego <y> en la opción "Long time scale". Observe lo ocurrido en presencia de distintas concentraciones de TEA a mayor tiempo. Si elimino el estímulo inicial y aplico 10 mM de TEA, ¿qué ocurre? Analice este efecto en relación al potencial de reposo y explique brevemente.

BIBLIOGRAFIA

Hodgkin AL, Huxley AF: **The components of membrane conductance in the giant axon of Loligo.** *J Physiol* 1952, **116**(4):473-496.

Hodgkin AL, Huxley AF: **Currents carried by sodium and potassium ions through the membrane of the giant axon of Loligo.** *J Physiol* 1952, **116**(4):449-472.